

FELICIDAD RONDA BALBÁS
PEDRO A. CABALLERO CALVO
MANUEL GÓMEZ PALLARÉS
CARLOS A. BLANCO FUENTES
(Editores)



NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA EL CONTROL
DE PROCESO Y DE PRODUCTO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

CARACTERIZACIÓN AROMÁTICA DE FRUTAS Y DETERMINACIÓN DE SU GRADO DE MADUREZ MEDIANTE TÉCNICAS DE NARIZ ELECTRÓNICA

1. EL CONSUMIDOR Y LA CALIDAD DE FRUTAS Y HORTALIZAS

El consumidor cree hoy que comer bien es comer variado tanto organoléptica como nutricionalmente, mostrando una preferencia muy clara por productos frescos y naturales, donde la fruta juega una papel fundamental.

Como integrantes de la dieta mediterránea destacan en la composición del gasto realizado en el hogar la adquisición de frutas y hortalizas. Por categorías de productos el aumento más significativo es el producido en el consumo de frutas frescas y transformadas, en 1999 el gasto destinado a estos productos en España fue del 9.2%. La fruta se identifica como un producto de futuro, es decir, como un producto que va a desarrollarse fuertemente en los próximos 10 años, tendencia que se justifica por el interés y primacía de lo sano, unido a la comodidad y a la rapidez, siendo en primer lugar la mujer (sin rol de ama de casa) la que apuesta por esta evolución. En los hogares españoles se consume una media de 5.62 kilogramos de fruta fresca por semana, siendo el consumo medio per capita de 2.33 kilogramos por semana. Los análisis de mercado reflejan que la decisión de compra en la sección de frutas y hortalizas de las grandes superficies muestra que el 83% de los consumidores eligen la variedad de fruta a comprar en función de su calidad (Fernández and Saá 2001).

Además esta calidad definida como "el conjunto de características de cualquier producto hortofrutícola que sirve para diferenciar unas unidades de otras y esto es lo que da significado en la aceptación del consumidor", representa el punto de partida de las llamadas Denominaciones de Origen (Llamazares and Martínez 2001).

Lavine, B. *In Practical Guide to Chemometrics*; Haswell, S.J., Dekker, M. Eds.; New York, 1992.

Guadarrama, A.; Fernández, J.A.; Iñiguez, M.; Souto, J.; Saja J.A. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *411*, 193-200.

Guadarrama A., Fernández, J.A.; Iñiguez, M.; Souto, J.; Saja, " *Sens. Actuators B*, vol. 3894, pp. 1-8, 2001.

Chatonnet, P.; Cutzach, I.; Pons, M.; Dubordieu, D. *J. Agric. Food. Chem.* **1999**, *47*, 4310-4318.

Toko, K. "Taste Sensor," *Sens. Actuators B*, **2000** *64*, 205-215,.

Vlasov, Y. ; Leguin, A. ; Rudnitskaya, A. ; D'Amico, A. ; Di Natale, C. *Sens. Actuators B*, **2000** *65*, 235-236,.

F. Winqvist, P. ; Wide, I. Lundstrom, *Anal. Chim. Acta*, **1997**. *357*, 21-31.

Yu R.Q., Zhang Z.R., Shen G.L., *Sens. Actuators B*, **2000**. *65*, 150-153.

Rodríguez-Méndez, M.L ; Arrieta A.; Parra, V. ; Vegas, A. ; Villanueva, S.; Gutierrez-Osuna, R. ; de Saja, J.A. . 9th International Symposium on Olfaction and Electronic nose ISOEN'02. Roma, Italia, 29 Septiembre-2 Octubre **2002**. Technical digest pp 126-127

Se define así un nuevo perfil del consumidor de la Unión Europea y un nuevo concepto de tiempo óptimo de conservación de frutas y hortalizas (ver Tabla 8-1).

Nuevo perfil de consumidor de la Unión Europea	
✓ Cada vez más exigente en cuanto a calidad:	Aroma Sabor
✓ Cada vez más preocupado por el valor nutritivo y dietético de los alimentos. En concreto, el consumo de frutas para prevenir:	Enfermedades carenciales Enfermedades degenerativas Estreñimiento (elevado contenido en fibra)
✓ Cada vez más consciente de emplear técnicas respetuosas con el medio ambiente	
<p>Nuevo concepto:</p> <p>Tiempo óptimo de conservación de frutas y hortalizas sustituye al de tiempo máximo de conservación de frutas y hortalizas porque las mayores pérdidas se suelen producir al final del tiempo de almacenamiento</p>	

Tabla 9.1. Definición del nuevo perfil de consumidor de la UE y de un nuevo concepto de conservación (Llamazares and Martínez 2001).

Todo lo anteriormente expuesto indica que el mercado de la fruta fresca a pesar de enfrentarse a distintas debilidades es un mercado potencialmente muy interesante y en crecimiento especialmente para productos de calidad.

1.2. LA CALIDAD DEL FRUTO

La calidad de un fruto se define por rasgos (características, atributos y propiedades) que hacen que sea calificado como de grado inferior o superior. Estos rasgos son diferentes según se analice la calidad desde el punto de vista del productor, distribuidor o consumidor. Estos últimos consideran que las frutas tienen calidad cuando poseen buen aspecto, sabor, olor y alto valor nutritivo.

Se puede definir como calidad de un fruto el conjunto de caracteres, tanto genéticos como inducidos en parte por la técnica, que le definen y que previo cumplimiento de unas Normas Técnico Sanitarias, lo hacen apetecible al consumo (Llamazares and Martínez 2001). La palabra calidad cubre de una manera más o menos consciente numerosos criterios, pudiéndose distinguir cuatro espacios de calidad (ver Tabla 8.2):

Nuevo perfil de consumidor de la Unión Europea	
Calidad comercial	Normalización y establecimiento de categorías: Extra, Primera, Segunda.
Calidad sanitaria	Límites máximos de residuos
Calidad nutricional	Contenido en vitaminas, fibra,...
Calidad sensorial	Calidad organoléptica

Tabla 9.2. Cuadro explicativo de los cuatro espacios de calidad

1.3. CALIDAD SENSORIAL. IMPORTANCIA DEL AROMA EN LA CALIDAD DE LA FRUTA

La calidad organoléptica de los alimentos se puede resumir con la siguiente expresión: “El placer de comer”, del inglés “The Pleasure of Food”. Calidad que se determina a través de la valoración sensorial de los alimentos, que a su vez se puede definir como “la valoración de las propiedades de una sustancia usando los sentidos” o como “la disciplina científica usada para evocar, medir, analizar e interpretar las características de los alimentos, percibidas a través de los sentidos de la vista, olfato, sabor, tacto y oído, solos o en combinación” (Shepherd 1999).

- La valoración sensorial dentro de la industria de los alimentos es necesaria,
- ✓ por el desarrollo de los productos, ya sea por la aparición de nuevos productos o por modificación de los ya existentes,
 - ✓ por el intento de las empresas de entrar en nuevos mercados,
 - ✓ por competir más eficazmente en los mercados ya existentes, y
 - ✓ para el control de la calidad.

Para realizar la experiencia sensorial el hombre y otros animales tienen dos mecanismos para detectar las sustancias químicas presentes en los alimentos o en el medioambiente: a través del sabor en la boca y/o a través del olor en la nariz (Shepherd 1999). Generalmente, el primer paso en el análisis de los alimentos por sistemas quimiosensoriales ocurre antes de que el alimento se encuentre dentro de la boca. En esta etapa y probablemente sólo en ésta, el alimento es analizado casi enteramente por el olfato (Maruniak 1996). Una vez que el alimento se encuentra en el interior de la boca los movimientos masticatorios y el incremento de temperatura provocan la liberación de los compuestos volátiles, pasando a la parte posterior de la boca de donde durante las expiraciones pasan a la nariz a través de la ruta retranasal estimulando las células receptoras olfativas. Los aromas que llegan a la nariz a través de la ruta retranasal son percibidos por el consumidor como una sensación oral y no nasal. Este efecto es conocido como “ilusión sabor-olor” (Maruniak 1996).

Los compuestos aromáticos son, por tanto, un importante grupo de sustancias que influyen en el olor y *flavor* de la fruta (ver apartado 2.1) a través del olfato, siendo responsables en gran medida de la calidad organoléptica del producto, pudiendo ser utilizado el aroma del fruto como un parámetro objetivo de calidad.

Así el consumidor tiende a utilizar el olor como un indicador de calidad, de forma que los aromas agradables se interpretan como un indicador de la calidad y buen estado del producto y olores desagradables se interpretan como indicadores de la presencia de problemas en el alimento que se va a consumir.

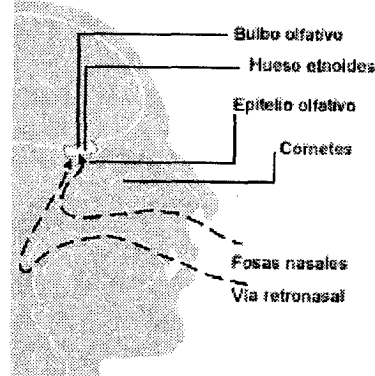


Figura 9.1. El sentido del olfato a través de las rutas o vías nasal y retronasal.

1.4. NORMATIVA Y CONTROL DE LA CALIDAD DURANTE LA PRODUCCIÓN

A pesar de que la caracterización de la calidad aromática como método para valorar la calidad es de gran interés para la industria de la alimentación, la normativa europea sobre la calidad comercial que deben presentar los frutos, se centra básicamente en aspectos externos. La norma (Reglamento (CE) N° 1619/2001 de la Comisión 2001) tiene por objeto establecer los requisitos de calidad que deberán cumplir manzanas y peras tras su acondicionamiento y envasado, especificando para ello unos requisitos mínimos de limpieza y sanidad que debe cumplir el producto, clasificándolo en tres categorías en función de sus características externas: forma, calibre, color, ausencia de defectos, etc.... El reglamento no establece ningún criterio de clasificación que atienda a características internas del fruto y que ayuden a caracterizar en el momento de la recolección su estado de madurez comercial y en el momento del consumo su estado de madurez gustativa.

Por otro lado ciertos productores y mayoristas utilizan además de los citados anteriormente otros parámetros para caracterizar la calidad del producto antes de

que llegue al consumidor, como son el contenido en ácidos, azúcares, firmeza Magness-Taylor..., utilizando dicha información para una mejor clasificación y diferenciación entre categorías. La definición y acotación de las distintas magnitudes por parte de un usuario se denomina especificaciones de producto y es cada vez más frecuente.

En ningún caso, ni la normativa ni el productor, contemplan el uso de alguna técnica para la determinación de la calidad aromática de la fruta.

1.5. ¿POR QUÉ UNA NARIZ ELECTRÓNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD AROMÁTICA EN FRUTOS?

La calidad en sentido estricto es el resultado de la combinación de las propiedades físicas, químicas y sensoriales de los frutos. Algunos de estos factores son susceptibles de medida con criterios objetivos como el contenido en azúcar, grado de acidez.... Sin embargo para muchas de las cualidades no existen ni magnitudes definidas ni equipos para su determinación, así para el estudio del aroma como cualidad organoléptica en frutos, se requiere el empleo de una sistemática analítica capaz de ofrecer una información completa y representativa de la mezcla de volátiles percibida a través del olfato.

Típicamente la medida del olor se basa en la evaluación sensorial realizada por un panel de catadores, el olor puede ser así clasificado desde un punto de vista cuantitativo, es decir intensidad de olor, y desde un punto de vista cualitativo o hedónico. Sin embargo el análisis sensorial presenta limitaciones en la realización de medidas de olores específicos que caractericen totalmente un sistema de interés, además de no ser una técnica práctica para medidas en continuo o semi-continuo de un olor debido entre otras cosas a su elevado coste.

Desde el punto de vista de la Química Analítica, la combinación de las técnicas de cromatografía de gases (CG) y espectrometría de masas (EM), permite caracterizar perfectamente un olor, identificando y cuantificando los distintos volátiles que lo componen y por tanto el sistema bajo estudio, pero ofreciendo una información muy diferente a la del olfato humano.

Todo esto, hace que se plantee la posibilidad de usar una nueva técnica basada en el uso de sensores de aromas, potencialmente útil para la evaluación objetiva (vs la subjetividad del análisis sensorial) y global (vs individualización de la cromatografía) de la intensidad de olor de los compuestos volátiles que son responsables del aroma de las muestras de alimentos.

2. CONCEPTOS Y DEFINICIONES RELATIVOS AL AROMA

El aroma del fruto es la sensación subjetiva producida por el olor de las sustancias volátiles que lo constituyen. La formación de los compuestos suelo,

responsables del aroma de los frutos está condicionada por numerosos factores externos e internos (López et al. 1998a), (Pérez et al. 1993): a) las condiciones de cultivo como suelo, clima, fertilización..., b) la fecha de recolección, c) los tratamientos pre y post-cosecha y, d) la regulación metabólica de la maduración como la tasa de respiración y tasa de emisión de etileno.

Son conceptos fundamentales en la caracterización del aroma: la sensación sabor-olor o *flavor*, el umbral de olor y los compuestos impacto y contributivos del aroma.

2.1. SENSACIÓN SABOR-OLOR O FLAVOR

Flavor es el término inglés con el que se define la sensación producida por un alimento (o cualquier material) cuando se lleva a la boca y es percibido por los sentidos del gusto y del olfato en combinación con las sensaciones generales que en la boca provocan su textura, temperatura y picor (Shaath and Griffin 1988) (ver Figura 9.1). Otros autores sin embargo, equiparan *flavor* exclusivamente con la sensación sabor-olor, al definir a aquel como el resultado de una interacción compleja entre las sensaciones de sabor transmitidas a través del epitelio oral y las sensaciones del olfato transmitidas a través del epitelio olfativo, de forma que a nivel del córtex ambas sensaciones se fusionan para proporcionar la sensación global de *flavor* que nosotros localizamos como si se produjera exclusivamente en la boca (Bauer, Santi, and Utermohlen 2000).

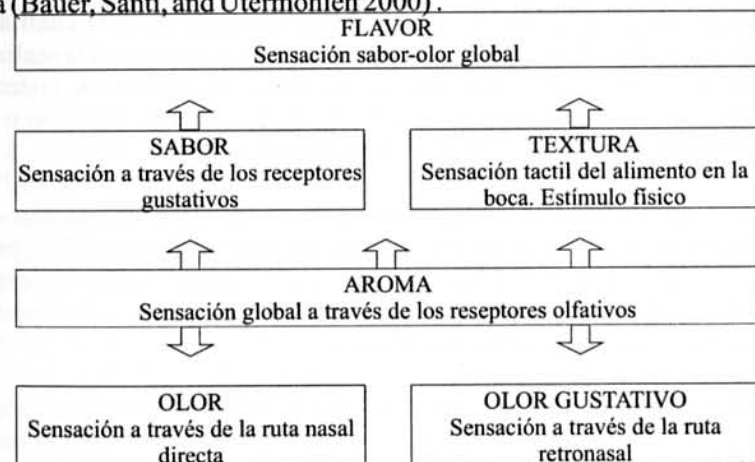


Figura 9.1. Esquema explicativo de los distintos componentes del flavor.

2.2. UMBRAL DE OLOR

Umbral de olor de un compuesto es la mínima concentración presente en el ambiente que el olfato es capaz de detectar (Flath et al. 1967). Esto indica que puede haber compuestos que a pesar de encontrarse en altas concentraciones no

son detectables por el olfato humano y viceversa. Los alcoholes son los que presentan umbrales de olor más altos, de forma que por ejemplo, para detectar el etanol se necesita la presencia en el ambiente de como mínimo 100 ppm, mientras que sólo 0.1 ppb de butirato de etil-2metilo nos permiten detectar este compuesto, siendo así los ésteres los que presentan umbrales de olor más bajos.

La determinación del umbral de olor para distintos compuestos se realiza utilizando paneles sensoriales. El umbral de olor de cada compuesto puede variar ligeramente en la bibliografía ya que los métodos de estimación y la muestra de partida pueden diferir de unas fuentes a otras, en cualquier caso este parámetro sirve como indicador de la contribución relativa de cada compuesto en el aroma global de la fruta, de forma que a menor umbral mayor contribución al aroma.

2.3. VALOR AROMÁTICO

El valor aromático de un compuesto se calcula como el cociente entre la concentración que de ese compuesto existe en el aroma del fruto y su umbral de olor; es por tanto adimensional. Así el valor aromático viene a complementar el parámetro umbral de olor al considerar la concentración para su estimación, de forma que a mayor valor aromático mayor será la importancia del compuesto en el aroma global del fruto.

La forma en la que se calcula el valor aromático de un compuesto indica, que éste variará con la variedad de fruto en la que se esté estimando (ver Tabla 9.3). Así mientras que ese valor para el hexanal es 44 en el albaricoque, en el caso del melocotón es de solo 19 unidades, indicando que la importancia del hexanal en cuanto a su concentración es mayor en la composición del aroma del albaricoque que en la del melocotón.

Fruto	Compuesto volátil	Concentración (g/kg)	Umbral de olor (g/kg)	Valor aromático
Albaricoque	Hexanal	220	5	44
	Linalool	296	6	49
Melocotón	Hexanal	84	4.5	18.7
	Linalool	95	6	15.8
Pera Asiática	2-metilbutanoato de etilo	222	0.006	37000
	Hexanoato	9427	1	9427

Tabla 9.3. Unidades de olor estimadas a partir de las concentraciones de los compuestos señalados, identificados y cuantificados por CG/EM a partir de albaricoques (var. Blenheim, (Takeoka et al. 1990)), melocotones frescos (datos de concentraciones calculados como la media de las obtenidas para las variedades Cresthaven, Bailey, June Gold, Selection y Boone, (Horvat et al. 1990)) y a partir de frutos frescos de pera asiática de la variedad Seuri (Takeoka, Buttery, and Flath 1992).

El uso de métodos físico-químicos de análisis, particularmente CG y EM, ha permitido la separación e identificación de más de 300 compuestos volátiles, aunque sólo unos pocos entre 20 y 40 son los responsables del aroma característico a manzana, identificándose entre ellos a los compuestos impacto como los responsables del *flavor* varietal (López et al. 1998a).

3.1. COMPUESTOS PREDOMINANTES SEGÚN LA VARIEDAD

Estudios recientes han mostrado que el aroma-flavor característico a manzana es el resultado de una mezcla compleja de alcoholes, ésteres, aldehídos y cetonas (Young et al. 1996). Así en función de la proporción relativa que de alcoholes y ésteres se encuentren en el aroma, los distintos cultivares de manzana se pueden clasificar en (López et al. 1998a):

- ✓ TIPO ESTER (TE) cuando los esteres predominan sobre la composición aromática total del fruto, y
- ✓ TIPO ALCOHOL (TA) cuando los alcoholes predominan sobre la composición aromática total del fruto.

La Tabla 9.4 muestra los compuestos volátiles que constituyen de forma mayoritaria la muestra gaseosa generada por fruta madura de cada una de las cinco variedades consideradas en el estudio bibliográfico, ordenadas de menor a mayor presencia de ésteres en el aroma de cada una de ellas. Se observa que son los cultivares que pertenecen a la familia Delicious las que presentan una mayor concentración de ésteres en su aroma, siendo los acetatos de etilo, hexilo y butilo los compuestos que aparecen con mayores concentraciones en todas las variedades consideradas. Sin embargo el impacto o contribución de estos y otros compuestos mayoritarios en la apreciación aromática característica de cada variedad dependerá como se ha expuesto en apartados anteriores, no sólo de la concentración sino también del umbral de olor del compuesto considerado.

El valor aromático indica que no son los compuestos que se encuentran en mayor concentración los más importantes en el aroma del fruto si no que es la combinación concentración-umbral, la que realmente determina dicha contribución. En la pera asiática (*Pyrus serotina*) el 2 metilbutanoato de etilo es el principal compuesto que determina el aroma del fruto, a pesar de encontrarse en una concentración 43 veces menor que el hexanoato de etilo, debido a su bajísimo umbral de olor (ver Tabla 9.3).

2.4. COMPUESTOS IMPACTO Y CONTRIBUTIVOS DEL AROMA

Compuestos impacto del aroma son aquellos cuya descripción o nota olfativa individual es el olor característico del fruto bajo estudio, mientras que compuestos contributivos son el resto de los volátiles que matizan y enriquecen la mezcla aromática para conseguir el aroma global característico del fruto (Pérez et al. 1993).

Se puede encontrar que el aroma de un fruto está definido por un único compuesto impacto, como el citral en el limón, caracterizado generalmente por un umbral de olor muy bajo, este es el caso del aldehído nona-2,6 dional que con un umbral de olor de 0.0001 ppm es el compuesto impacto del pepino (Harborne 1993).

En otros frutos son varios los compuestos impacto del aroma, es el caso del plátano con los acetatos de etilo e isoamilo o el de la fresa con tres compuestos impacto el butanoato, 2-metil butanoato y hexanoato de etilo (Pérez et al. 1993). Incluso hay frutos en los que no se ha descrito ningún compuesto impacto, como por ejemplo el albaricoque en el que ninguno de los compuestos volátiles aislados posee separadamente el aroma característico del fruto, si no que su aroma es debido a una respuesta integrada hacia el conjunto de los compuestos volátiles contributivos de su aroma siempre y cuando se encuentren en las proporciones adecuadas (Crouzet, Etievent, and Bayonove 1990).

Por tanto, no hay que olvidar que la importancia relativa de cada compuesto individual en el aroma no puede ser juzgada separadamente a partir de los datos obtenidos sensorialmente y por su valor aromático, si no que es necesario valorar las complejas interacciones que tienen lugar entre los distintos componentes volátiles de una mezcla aromática, ya que no se puede considerar el aroma como una sensación puramente aditiva. Estas interacciones son las que explicarían, por ejemplo, la distinta incidencia sensorial del acetato de isoamilo en plátano y fresa. En el plátano este es un compuesto impacto cuya nota aromática es descrita como olor a plátano, sin embargo en la fresa, esta misma nota aromática parece diluirse en el resto de los componentes de la mezcla que ejercerían un efecto antagónico sobre él que reduciría su incidencia sensorial (Pérez et al. 1993).


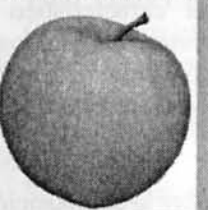
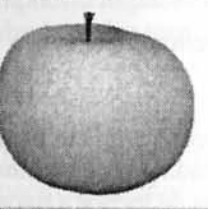

Variedades	Tipo	Compuestos volátiles Predominantes	Referencias
	TA (≈70% alcoholes)	<p>Esteres</p> <p>Acetato de butilo (17%) Acetato de hexilo (6%) Acetato de 2 metil-butilo (4%)</p> <p>Alcoholes</p> <p>n-Butanol (51%) n-Hexanol (8%) 2-Metil butanol (4%)</p>	(Young et al. 1996)
	TE (≈70% ésteres)	<p>Esteres</p> <p>Acetato de butilo (7%) Acetato de 2-metil-propilo (7%) Acetato de propilo (12%) Propionato de t-butilo (7%)</p> <p>Alcoholes</p> <p>Etanol (13%) 1-Propanol (5%)</p>	(López et al. 1998a)
	TE (≈ 80% ésteres)	<p>Esteres</p> <p>Acetato de butilo (10%) Acetato de hexilo (9%) Acetato de 2-metilbutilo (7%) Butirato de etilo (7%) Propionato de etilo (21%)</p> <p>Alcoholes</p> <p>1-Hexanol (6%)</p>	(López et al. 1998a)
Bisbee Delicious	TE (≈ 94% ésteres)	<p>Esteres</p> <p>Acetato de butilo (21%) Acetato de hexilo (11%) Acetato de 2-metil-butilo (30%) Acetato de propilo (3%) 2-metil butirato de etilo (6%)</p> <p>Alcoholes</p> <p>1-butanol (4%)</p>	(Mattheis, Buchanan, and Fellman J.K. 1995)
	TE (≈ 98% ésteres)	<p>Esteres</p> <p>Acetato de etilo (22%) Acetato de 2-metil butilo (3%) Butirato de etilo (17%) 2-metil butirato de etilo (31%) Hexanoato de etilo (4%) Propionato de etilo (3%) Propionato de t-butilo (13%)</p>	(López et al. 1998b)

Tabla 9.4. Compuestos volátiles predominantes en 5 variedades de manzana, a partir de frutos maduros de cada variedad, identificados y cuantificados por CG/EM.

Así la contribución al aroma del acetato de etilo con un umbral de olor de 5 ppm será mucho menor que la del acetato de hexilo que tiene un umbral de olor de 0.002 ppm, aunque el primero pueda encontrarse en mayor concentración que el segundo.

3.2. COMPUESTOS CONTRIBUTIVOS E IMPACTO DEL AROMA SEGÚN LA VARIEDAD. DESCRIPCIÓN AROMÁTICA

Los volátiles tienen un efecto pequeño si lo comparamos con el del ácido málico y los sólidos solubles, sobre el *flavor* dulce y el *flavor* ácido en manzana (Watada et al. 1981), sin embargo, la reducción de la emisión aromática se ha descrito como uno de los factores que probablemente influye más en la disminución del *flavor* global en la fruta (Fallik et al. 1997). Se puede señalar en general que los aldehídos de seis carbonos están relacionados con el aroma descrito como a maduro, aromático y frutal, mientras que el contenido en ésteres se relaciona con el aroma a sobremaduro, “a queso” (Poll 1985).

El aroma de la Royal Gala está caracterizado por cuatro compuestos que contribuyen a su aroma varietal (butanol y los acetatos de 2metil-butilo, butilo y hexilo), destacando de entre ellos el acetato de 2metil-butilo que con un bajo umbral de olor (0.005 ppm) y con su aroma a manzana roja es el compuesto impacto de esta variedad. El descriptor sensorial para el aroma de la Royal Gala es “manzana roja” que permite diferenciarla de otras percepciones de aroma a manzana como el de “manzana verde” asociado a la variedad Granny Smith o “manzana leñosa” asociado al cultivar Red Delicious. La asociación del butanol y los acetatos de 2metil-butilo y hexilo con el aroma a “manzana roja” confirma que el aroma definido a través de este descriptor para la Royal Gala es bastante diferente del de las manzanas tipo Delicious (Young et al. 1996).

En el perfil aromático de manzanas Granny Smith no hay ningún compuesto predominante, el aroma característico de la variedad se debe a una suma de las sensaciones floral-dulce-frutal producidas por los distintos ésteres y alcoholes presentes (López et al. 1998a).

En el cultivar Golden Delicious se identifican cuatro compuestos impacto que individualmente presentan el aroma identificado como olor a manzana que son el butanoato, 2-metilbutanoato y hexanoato de hexilo y el hexanoato de butilo, el resto de los volátiles contribuyen en la mezcla aromática dando el aroma global característico de la variedad (Pérez et al. 1993), destacando de entre ellos el Butirato de etil-2metilo.

En la variedad Starking Delicious son tres los compuestos que más contribuyen en la formación del aroma típico (ver Tabla 9.5) de entre ellos destaca el 2-metil butirato de etilo que además de ser el compuesto predominante en el aroma (31%), su bajo umbral de olor (0.0001 ppm) hace que el número de

unidades de olor para esta variedad sea muy elevado.

El 2-metil butirato de etilo con un aroma frutal y bajo umbral de olor es el compuesto volátil que más contribuye en el aroma a manzana de las variedades de la familia Delicious (Mattheis, Buchanan, and Fellman J.K. 1995).

Compuestos contributivos e impacto	Descripción aromática	Estado de madurez	Referencias
Royal Gala			
Acetato de 2-metilbutilo	Manzana roja		
Acetato de 2-metilbutilo + Acetato de hexilo + butanol	Flavor a manzana roja	Madurez gustativa	(Young et al. 1996)
Hexil acetato + butanol, Acetato de 2-metilbutilo + butanol	Flavor dulce		
Golden Delicious			
Butanol			
Hexanol	Dulce	Madurez comercial	(López et al. 1998a)
Butirato de etilo			
2-metil butirato de etilo	Frutal	Madurez comercial	(López et al. 1998a)
Acetato de propilo			
Acetato de butilo			
Acetato de pentilo			
Butirato de butilo	Sin nota aromática específica contribuyen al aroma global	Madurez comercial	(López et al. 1998a)
Butanoato de hexilo			
Hexanoato de butilo			
2-metilbutanoato de hexilo			
Hexanoato de hexilo	Manzana	Madurez comercial	(Pérez et al. 1993)
Acetaldehído			
Trans-2-hexenal	Acidez picante	Madurez comercial	(López et al. 1998a)
α -Farneseno	Varietal	Madurez gustativa	(Song and Bangerth 1994)
Acetato de etil-2metilbutilo	Varietal	Madurez gustativa	(Song and Bangerth 1994)
Acetaldehído			
Trans-2-hexenal	Verde intenso		
Hexanal	Verde intenso		
Acetato de amilo	Tierra		
Acetato de hexilo	Frutal	Madurez gustativa	(Rizzolo and Polesello 1989)
	Manzana		
Hexanol	Terroso-desagradable		
Starking Delicious			
2-metil butirato de etilo + Butirato de etilo + hexanoato de etilo	Varietal	Madurez comercial	(López et al. 1998b)

Tabla 9.5.: Descripción aromática para los compuestos contributivos e impacto del aroma en algunas variedades de manzana.

4. FACTORES EXTERNOS QUE AFECTAN A LA COMPOSICIÓN AROMÁTICA DE LA FRUTA TRAS LA RECOLECCIÓN

Distintos estudios han demostrado que los volátiles producidos por los frutos cambian cuantitativa y cualitativamente con la maduración (Watada et al. 1981). El mayor incremento en la concentración de compuestos volátiles en la fruta se ha detectado varias semanas antes del pico climaterico, a partir de ese momento y a medida que avanza el climaterio la concentración de volátiles va disminuyendo (Fallik et al. 1997).

La velocidad de maduración de la fruta tras la recolección estará determinada por la combinación del estado de madurez con el que se recolecte la fruta, las condiciones de frigoconservación y la duración del almacenamiento (Mattheis, Buchanan, and Fellman J.K. 1995), factores cuyo efecto sobre la emisión aromática de la fruta se trata a continuación:

4.1. FECHA DE RECOLECCIÓN

La madurez del fruto en el momento de la recolección influye en la producción aromática post-cosecha, de forma que cuanto más verde y menos desarrollado se recolecte el fruto menor cantidad de compuestos aromáticos se desarrollarán durante el periodo de almacenamiento (Mattheis, Buchanan, and Fellman J.K. 1995).

El análisis del contenido en ácidos grasos en manzanas Golden Delicious, precursores tempranos de los compuestos volátiles del aroma, indicó que la fruta cosechada tempranamente contiene mucha menor cantidad de estos constituyentes particularmente en los ácidos palmítico, esteárico, oleico y linoleico, con lo que se puede concluir que la baja producción de aroma de manzanas procedentes de una cosecha temprana es debido a la reducida capacidad para la síntesis de ácidos grasos y aminoácidos de estos frutos (Song and Bangerth 1994).

En manzanas de la variedad Bisbee Delicious almacenadas en condiciones de Ultra Bajo Oxígeno (ULO) y Frio Normal (FN) se ha detectado que tras el almacenamiento los frutos procedentes de una cosecha más tardía emitían tras la maduración en estantería mayor cantidad de volátiles que los frutos recolectados en fechas más tempranas. La maduración de la fruta tras el almacenamiento en Atmósfera Controlada (AC) sólo mejoró la emisión de 2-metil butirato de etilo para la fruta recolectada en fechas próximas al climaterio (Mattheis, Buchanan, and Fellman J.K. 1995).

4.2. TIPO DE FRIGOCONSERVACIÓN

Los tratamientos de frigoconservación son un medio muy efectivo para retrasar la maduración de la fruta, pero también la síntesis de los compuestos que

contribuyen al *flavor* y al aroma puede inhibirse por una almacenamiento muy prolongado en AC, este efecto supresor aumenta a medida que disminuye la concentración de O₂, aumenta la de CO₂ y se incrementa la duración del almacenamiento, recuperándose parcialmente la producción de volátiles sólo después de un cierto tiempo de vida en estantería (Mattheis, Buchanan, and Fellman J.K. 1995).

	Tipos de AC		
	AC estándar (ACS)	Low oxygen (LO)	Ultra low oxygen (ULO)
Oxígeno %	3	1.4-2	1-1.3
Carbónico %	2.5-3.8	1.5-2	<1

Tabla 9.6. Combinaciones de concentración O₂/CO₂ para los distintos tipos de AC (Herrero and Guardia 1992)

En el caso de la manzana una disminución de la sensibilidad del fruto hacia el etileno se ha sugerido como mecanismo que puede explicar los efectos de la AC, y la necesidad de maduración de los frutos a temperatura ambiente y atmósfera normal (vida en estantería) se explica porque es en estas condiciones cuando se activan los pasos terminales de la ruta de síntesis de los ésteres (Mattheis, Buchanan, and Fellman J.K. 1995). Por otro lado investigaciones sobre la biogénesis del aroma han señalado que la biosíntesis de ácidos grasos y aminoácidos juega un papel muy importante en la formación del aroma, así la supresión de esta producción durante los almacenamientos en ACS y ULO puede ser debida a la baja capacidad para la biosíntesis de ácidos grasos en estos frutos (Song and Bangerth 1994).

Fruto	Efecto	Referencia
FN vs AC		
Golden Delicious Starking Delicious	Incluso tras largos periodos de almacenamiento emisión volátiles en FN y AC > frente recolección	(López et al. 1999), (López et al. 2000) (López et al. 1998b)
Golden Delicious	LO emisión aromática \cong FN Cortos periodos de almacenamiento (3 meses) no son suficientes para detectar diferencias entre los dos tipos de almacenamiento	(López et al. 1999)
Golden Delicious	FN mayor emisión aromática que AC	(Mattheis, Buchanan, and Fellman J.K. 1995)

ACS vs LO vs ULO		
Golden Delicious Granny Smith Starking Delicious	LO emisión aromática >> ACS > ULO, especialmente para almacenamientos superiores a 5 meses	(López et al. 1999), (Streif and Bangerth 1988) (Lavilla et al. 1999) (López et al. 1998b)
Golden Delicious	LO emisión de butirato de 2-metilo >>> ACS y ULO	(López et al. 1999)
Golden Delicious	ULO emisión aromática <<< ACS a partir de 3 meses de almacenamiento	(Streif and Bangerth 1988)

Tabla 9.7. Efectos del tipo de almacenamiento sobre la emisión aromática de distintas variedades de manzana.

En las variedades de la familia Delicious consideradas (ver Tabla 9.7) es el almacenamiento en LO la mejor combinación dentro de las AC, al mantener los parámetros de firmeza, ácidos y azúcares en la fruta sin provocar una disminución significativa en la emisión aromática con respecto al FN y no restringiendo la síntesis de los ésteres de cadena ramificada como el 2-metil butirato de etilo que se define como uno de los compuestos responsables del *flavor* en manzanas de la familia Delicious.

4.3. DURACIÓN DE LA CONSERVACIÓN FRIGORÍFICA

En general la capacidad del fruto de recuperar la producción aromática tras el almacenamiento en AC durante la vida en estantería disminuye a medida que aumenta la duración del almacenamiento. Manzanas Golden Delicious almacenadas durante tres meses son capaces de recuperar casi por completo su capacidad de emisión de volátiles para todos los tratamientos de LO y ULO a las que fue sometida, según se va alargando el periodo de almacenamiento la capacidad de la fruta a recuperarse disminuye sobre todo para los lotes sometidos a los tratamientos de AC más eficientes. Esta menor emisión de volátiles se ha correlacionado en los test organolépticos con el reducido *flavor* que presentan manzanas que han sido almacenadas durante un largo periodo de tiempo (Streif and Bangerth 1988).

Durante el almacenamiento frigorífico el fruto produce distintas sustancias volátiles como consecuencia de su metabolismo, estos compuestos contribuyen significativamente a la calidad organoléptica de la fruta almacenada, que son de especial importancia en almacenamientos de larga duración (seis a nueve meses) (Rizzolo and Polesello 1989).

Análisis estadísticos han demostrado que la interacción entre el periodo de almacenamiento y los días de maduración en estantería es el factor que presenta el efecto más significativo sobre la producción total de ésteres y alcoholes en manzanas Golden Delicious (López et al. 1999), siendo en la variedad Starking Delicious el periodo de almacenamiento el factor que produce el principal efecto sobre los distintos parámetros de madurez (Lavilla et al. 1999).

Para las variedades Delicious el periodo de almacenamiento de 5 meses (ver Tabla 9.8) es el óptimo para la máxima emisión de volátiles.

Fruto	Efecto	Referencia
Starking Delicious Golden Delicious	Aumento de la emisión aromática durante la vida en estantería para frutos conservados tanto en FN como AC	(López et al. 1998b) (Streif and Bangerth 1988)
Starking Delicious Golden Delicious	Para todas las cámaras máxima emisión de volátiles a los 5 meses de almacenamiento, periodos de almacenamiento > a 5 meses se traducen en un descenso en la emisión aromática	(López et al. 1998b) (Streif and Bangerth 1988), (López et al. 1999)
Golden Delicious	Producción de ésteres > producción de alcoholes para todos los tiempos de almacenamiento considerados	(López et al. 1999)

Tabla 9.8. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la emisión aromática en distintas variedades de manzana.

4.4. VIDA EN ESTANTERÍA

En general tras un almacenamiento en AC se necesita un tiempo de maduración en condiciones ambientales para que la fruta recupere su capacidad de emisión de volátiles y por tanto la producción aromática característica de un fruto maduro. El efecto que la vida en estantería tiene en la producción aromática del fruto según diversos autores se indica en la siguiente tabla:

Fruto	Efecto	Referencia
Granny Smith	Condiciones de LO y ULO no favorecen la producción de ésteres ramificados durante la vida en estantería	(Lavilla et al. 1999)
Golden Delicious	FN, ACS y ULO máxima emisión de volátiles tras 5 días de vida en estantería. LO máxima emisión tras 10 días de maduración en estantería	(Lavilla et al. 1999)
Starking Delicious	Máxima emisión de butirato de etil 2-metilo tras 5 días de vida en estantería, para ACS y LO después de 5 meses de almacenamiento	(López et al. 1998b)

Tabla 9.9. Efecto de la vida en estantería sobre la emisión aromática en distintas variedades de manzana.

5. NARICES ELECTRÓNICAS

Las “narices electrónicas”, también llamadas (para muchos más correctamente) “sensores de aromas”, “sensores de olores” o “sensores de gases”, son equipos desarrollados con el objetivo de conseguir la caracterización instrumental del aroma de los alimentos.

Gardner y Bartlett (1993) definieron la NE como: “un instrumento compuesto por un conjunto de sensores químicos electrónicos con especificidad parcial y una apropiado sistema de reconocimiento de patrones, capaz de reconocer olores simples o complejos”.(Mielle 1996).

Una nariz electrónica (NE) puede considerarse como una copia muy simplificada del órgano olfativo humano (ver Figura 9.3). Células receptoras son reemplazadas por sensores de gases no específicos que reaccionan con diversos compuestos volátiles, no hay mucus en el que las moléculas olorosas puedan disolverse pero éstas se adsorben sobre el recubrimiento sensible de los sensores. La transducción de la señal desde los receptores olfativos es reemplazada en una NE por circuitos de acondicionamiento de la señal convirtiéndola normalmente en una señal eléctrica de voltaje, y por último la codificación de la señal neuronal para poder reconocer un olor y su intensidad en los humanos es sustituida en la NE por algún tipo de reconocimiento de patrones (Lacey and Osborn 1998).

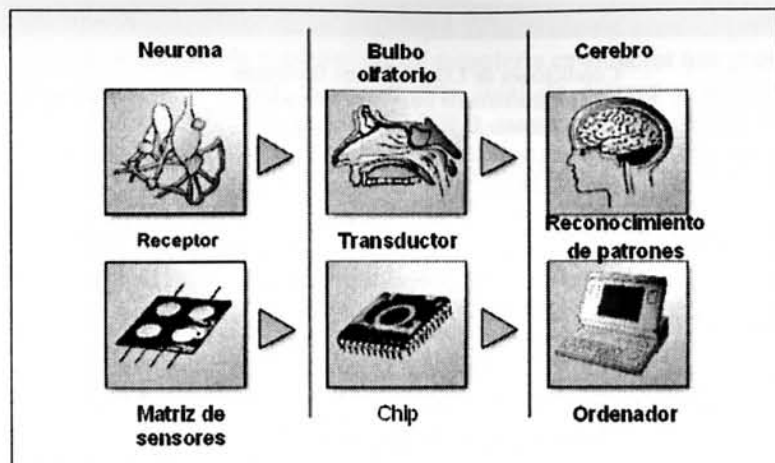


Figura 9.3. Comparación de los elementos básicos de una NE con el sistema olfativo humano

Al igual que en los humanos es una técnica de análisis global ya que no se necesita identificar concienzudamente cada uno de los distintos constituyentes de un olor sino reconocerlo. Sin embargo no hay que olvidar que los sistemas actualmente disponibles no trabajan exactamente igual que una nariz humana ya que no detectan los mismos volátiles que ésta además de presentar mucha menor sensibilidad, la nariz humana presenta un umbral de detección que típicamente se sitúa entre 1000 ppm y menos de 1 ppt (ver Tabla 9.10), de ahí que como se ha señalado más arriba, algunos autores prefieran llamar a estos equipos sensores de gases y no narices electrónicas para que no exista esa asociación directa entre este equipo y la nariz humana (Mielle 1996).

Aspecto	Nariz Humana	Nariz electrónica
Nº de células receptoras olfativas / sensores	40 millones	4 a 32
Area de mucus olfativo / sensores	5 cm ²	1 cm ²
Nº de cilios por célula receptora olfativa	10-30	---
Concentración media para umbral de detección del almizcle	0.00004 mg/l de aire	Desconocida

Tabla 9.10 Comparación de la capacidad sensitiva de la nariz humana vs NE (Lacey and Osborn 1998)

En términos generales se considera que hay varias etapas involucradas en el funcionamiento de una NE como son la preparación, acondicionamiento y transferencia de la muestra, la medida de la muestra gaseosa y por último la adquisición, calibración y procesamiento de datos.

5.1. VENTAJAS E INCONVENIENTES DEL USO DE UNA NARIZ ELECTRÓNICA

Se ha visto que la caracterización de la calidad aromática como método para valorar la calidad es de gran interés para la industria de la alimentación, por tanto la evaluación objetiva y en tiempo real de la intensidad de olor de los compuestos volátiles que son responsables del aroma de las muestras de alimentos es muy interesante y actualmente potencialmente posible por el uso de los sensores de aromas. Esta nueva tecnología es una herramienta en potencia capaz de detectar en línea derivas o defectos en un proceso o en un producto, aunque en la mayoría de los casos no podría detectar la naturaleza u origen de ese defecto, a pesar de ello permitiría detener la producción automáticamente cuando un proceso derivara demasiado con respecto a un estándar predefinido (Mielle 1996), (Bartlett, Elliot, and Gardner 1997).

Es importante recordar que estos sistemas no son sustitutos sino complementarios de los métodos sensoriales o de análisis por separación (CG o EM) tradicionales que son reconocidos por todos los laboratorios. Los sensores de aromas son rápidos pero tienen precisión sólo en un rango medio, sin embargo hacen posible recurrir a los métodos tradicionales sólo en el caso en el que un defecto necesite ser examinado más profundamente, las ventajas e inconvenientes principales de estos equipos se indican a continuación (ver Tabla 9.11) (Mielle 1996):

VENTAJAS	INCONVENIENTES
<ul style="list-style-type: none"> Método de análisis global del aroma Rápida respuesta de los sensores ante la muestra gaseosa (1-5 min versus los hasta 45 min de una cromatografía de gases). Disponibilidad de equipos comerciales portátiles. Respuesta objetiva. Posibilidad de instalación en líneas de producción, para medidas en continuo. Amplio rango de precios en los equipos disponibles, algunos de ellos relativamente baratos (la mitad del precio de un CG) y en general ninguno de ellos supera el precio de un CG/EM. Método no destructivo Procedimiento de muestreo poco complejo Permite muestrear volátiles peligrosos para la salud (toxinas, esporas, gases tóxicos, etc...). 	<ul style="list-style-type: none"> Baja sensibilidad en relación con la nariz humana Deriva de la señal con el tiempo de trabajo y las variaciones de la temperatura Falta de reproducibilidad en la fabricación de los recubrimientos de los sensores Elevada influencia en la respuesta del sensor de temperatura y humedad relativa Sistema de obtención del espacio de cabeza en general poco eficiente que introduce muchas fuentes de variación Sensibilidad de los sensores hacia moléculas no olorosas. Largo tiempo de obtención de la muestra gaseosa (≈ 40 min)

Tabla 9.11. Ventajas e inconvenientes de las narices electrónicas.

5.2. APLICACIONES DE LAS NARICES ELECTRÓNICAS EN LA INDUSTRIA HORTOFRUTÍCOLA

Gelperin et al. (ver Tabla 9.12) conseguían diferenciar entre muestras con una producción aromática muy similar, como distintas variedades de manzana (McIntosh, Rome, Braeburn, Red Delicious y Fuji) o de naranja (Valencia, Florida). Lo más significativo del sistema es que las muestras gaseosas se obtenían a partir de fruta entera de la cual se "olfateaba" su espacio de cabeza durante sólo segundo.

La determinación de la fecha óptima de recolección es de extrema importancia en relación con la preservación de la calidad de la fruta durante el almacenaje. En general frutos recolectados demasiado temprano no maduran eficientemente después del almacenamiento pudiendo sufrir además desórdenes fisiológicos, mientras que la fruta recolectada demasiado tarde se ablandará antes durará menos tiempo en condiciones óptimas durante el almacenamiento. Saevels, di Natale, and Nicolai (2002) han construido un modelo de calibración para representar la madurez fisiológica de la fruta en tiempo (semanas) antes de la recolección comercial a partir de los datos obtenidos del análisis de la producción aromática de dos variedades de manzana Jonagold y Braeburn semana a semana durante 9 antes de la recolección comercial. Esta NE puede ser usada para medir los cambios en madurez durante el periodo preclimático puesto que las señales de los sensores se correlacionan muy bien con los índices tradicionales de madurez como el índice de almidón. Brezmes et al. (2001) utilizaron un prototipo de NE para determinar con éxito la fecha óptima de recolección en melocotones y nectarinas. Young et al. (1999) midieron los cambios en el aroma de manzanas Royal Gala cosechadas en cuatro fechas distintas correspondientes a la recolección comercial (las tempranas, una media y una última tardía) pudiendo diferenciar entre las distintas fechas de recolección.

Son múltiples las citas bibliográficas que describen el uso con éxito de NE para monitorizar la evolución del estado de madurez de la fruta a lo largo de la vida en estantería. Hines, Llobet, and Gardner (1999) fueron capaces de detectar distintos grados de madurez en un lote de manzanas Golden Delicious mantenidas a vida en estantería a lo largo de 21 días. El prototipo de sensor de gases permitió diferenciar entre manzanas verdes (ensayadas los dos primeros días), manzanas con madurez media (ensayadas entre los días 3 y 9) y manzanas totalmente maduras (ensayadas entre los días 10 y 21). Mismo resultado obtuvieron estos investigadores Llobet et al. (1999) usando una NE similar con plátanos, diferenciaron así de nuevo tres estados de madurez a lo largo de un periodo de 29 días de vida en estantería, fruta verde durante los primeros 8 días de maduración, madurez media entre los 9 y 15 días y madurez total que se correspondía con la fruta ensayada durante los 14 días restantes. Brezmes et al. (2000) usando un prototipo de NE logran diferenciar en muestras de melocotones y peras

madurando durante 15 y 26 días respectivamente, los mismos tres estados de madurez, verde, maduro y sobremaduro.

Saevels et al. (2002) dan en este sentido un paso hacia adelante ya que utilizando el equipo "Libra Nose" para evaluar la calidad de manzanas Jona Gold después del almacenamiento, observaron que al analizar las manzanas almacenadas durante 8 meses bajo tres diferentes atmósferas ultra bajo oxígeno, atmósfera controlada normal y frío normal y mantenidas una vez acabado el almacenamiento en condiciones de vida en estantería durante 1, 5, 8, 12 y 15 días, los datos mostraban que las diferencias detectadas en los lotes correspondientes al almacenamiento en distintas atmósferas no eran significativas, sin embargo la NE podía determinar el tiempo de vida en estantería que había sufrido la fruta con un error inferior a 3 días.

Durante el almacenamiento se pueden desarrollar distintos tipos de daños y patologías, que provocan una alteración de la producción aromática de los productos, siendo por tanto esta una potencial aplicación de la NE. Así una NE comercial de Neotronics la e-nose 4000, fue utilizada para detectar la existencia de daños por frío en tomates antes de que los síntomas externos de este desorden aparecieran. Maul et al. (1999) consiguieron diferenciar entre cuatro tratamientos a los que fue sometida la variedad Solimar de tomate partiendo de tomates verdes maduros y verdes inmaduros almacenados durante 7 días a 5°C y 20°C, sabiendo que el tratamiento a 5 °C era inductor de la aparición de daños por frío. Di Natale et al. (1997) utilizaron una NE "Libra Nose" para analizar pulpa de tomate con el objetivo de estimar el límite de resolución detectable de ácido acético en pulpa de tomate, ya que el ácido acético es uno de los compuestos más importantes producido por la pulpa de tomate durante el proceso de podredumbre. Normalmente la presencia de este compuesto se comprueba usando un panel de catadores que degustan pulpa de tomate a la que se le va añadiendo distintas cantidades de acético, mostrando éstos un límite de resolución de 90 ppm, mientras que los sensores de gases evaluando las mismas muestras presentan una resolución entre 50 y 100 ppm, lo que es comparable con la resolución del gusto humano y por tanto hace a este equipo potencialmente útil en este tipo de determinaciones.

Referencia	Equipo	Aplicación
(Gelperin et al.)	NE de Neotronics (12 CP)	Diferenciación entre distintas variedades de manzana
Fecha de recolección		
Saevels, di Natale, and Nicolai (2002)	Libra Nose (8 QCM)	Construcción de un modelo de calibración para representar la madurez fisiológica de manzanas en semanas desde la recolección
(Brezmes et al. 2001)	Prototipo sensores MOS	Determinación de la fecha óptima de recolección en melocotones y nectarinas
(Young et al. 1999)	FOX 4000 Alpha MOS	Diferenciación entre lotes de manzana recolectadas en 4 fechas distintas
Vida en estantería		
Hines, Llobet, and Gardner (1999), (Llobet et al. 1999), (Brezmes et al. 2000)	Prototipo sensores MOS	Diferenciación en manzanas (21 días), plátanos (29 días), melocotones (15 días) y peras (26 días), a lo largo de la vida en estantería, de tres estados de madurez: verdes, madurez media y totalmente maduro.
(Saevels et al. 2002)	Libra Nose (8 QCM)	Determinación del tiempo de vida en estantería, al que habían estado sometidos frutos de manzana, con un error inferior a tres días.
Tipo de almacenamiento		
(Saevels et al. 2002)	Libra Nose (8 QCM)	Diferencias no significativas en lotes de manzana correspondientes al almacenamiento en distintas atmósferas
Daños y patologías		
(Maul et al. 1999)	e-nose 4000 (Neotronics)	Detección de daños por frío en tomates anterior a la aparición de los síntomas externos
(Di Natale et al. 1997)	Libra Nose (8 QCM)	Detección con un límite de resolución entre 50-100 ppm (similar al del panel de catadores) de ácido acético en pulpa de tomate.

Tabla 9.12. Resumen de aplicaciones de NE en la industria hortofrutícola. CP (sensores de Polímeros Orgánicos Conductores), MOS (sensores Semiconductores de Óxidos de Metal), QCM (sensores de Microbalanzas de Cristal de Cuarzo)

6. CASO PRÁCTICO: EVALUACIÓN DE LA CALIDAD AROMÁTICA DE MANZANA CV. FUJI EN ALMACENAMIENTO FRIGORÍFICO MEDIANTE EL USO DE UNA NARIZ ELECTRÓNICA

En el Laboratorio de Propiedades Físicas de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid se ha desarrollado a lo largo de tres años el proyecto nacional CICYT de referencia ALI1998-0960-C02-01 y título: "Evaluación no destructiva de la calidad de frutos mediante la integración de sensores electrónicos de aromas, en diferentes tecnologías de frigoconservación (AROFRU)". Dentro de este proyecto se realizaron varios Experimentos, uno de los cuales es el que se presenta aquí y se planteó para evaluar la posibilidad de diferenciar lotes de fruta sometida a distintas condiciones de almacenamiento usando una nariz electrónica (NE).

6.1. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1.1. Descripción del Experimento con nariz electrónica

Dado que este tipo de experimentos supone el análisis del material vegetal en días distintos se estableció la necesidad de efectuar un control de la deriva de la respuesta de la NE. Por ello este experimento se dividió a su vez en dos experimentos parciales (ver Figura 9.4) que se realizaron simultáneamente a lo largo de la campaña de 2000-2001 correspondientes: a la evaluación del almacenamiento frigorífico en manzana cv Fuji y calibración de la NE.

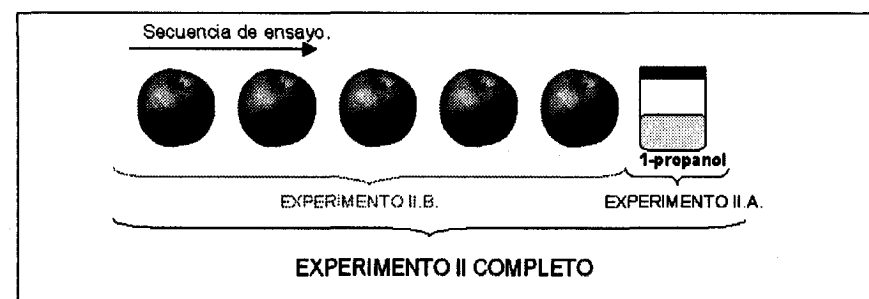


Figura 9.4. Esquema explicativo del Experimento para un lote ejemplo de 5 frutos.

En este experimento se eligió un diseño factorial que engloba aquellos factores que según la bibliografía influyen en la calidad final que alcanza la fruta tras el almacenamiento (ver Tabla 9.13): condiciones de almacenamiento (CA), tiempo de almacenamiento (TA), tiempo de vida en estantería (VE) tras la salida de cámara y fecha de recolección (FR). Los lotes tuvieron un tamaño de 15 frutos, analizándose un total de 360 frutos.

Tipo	CA		TA (meses)	VE (días)	FR
	%O ₂ %	CO ₂			
FN	21	0,03	3	1	
ACS	3	2	5	5	1 (9/10/00)
ULO1	1	1	7	10	2 (18/10/00)
ULO2	1	2			

Tabla 9.13. Tabla explicativa de las características del diseño factorial del Experimento. Para todas las CA las cámaras se mantuvieron a 1°C de temperatura y a un 92% de humedad relativa.

Se ha demostrado que los volátiles producidos por los frutos cambian cuantitativa y cualitativamente con la maduración, de ahí que para poder correlacionar la emisión aromática del fruto con su estado de madurez se realicen una serie de medidas de referencia que permitan caracterizar el estado de madurez del fruto en cada momento. Tomando como base la experiencia investigadora del Laboratorio de Propiedades Físicas se decidió que los atributos de calidad más importantes para hacer un seguimiento de la evolución del fruto son los que se enumeran a continuación y cuya realización ha sido descrita en numerosas publicaciones (Barreiro and Ruiz-Altisent 1996), (Valero and Ruiz-Altisent 1998):

- ✓ color externo de la piel del fruto, estimado como porcentaje de reflectancia en el espectro visible (desde 400 nm a 700 nm) a través de las coordenadas de color L*, a*, b*,
- ✓ variables texturales y propiedades mecánicas cuantificadas a través de diferentes ensayos reológicos, como estimación de la resistencia de la piel (PPTE) y de la firmeza Magness Taylor (MPTE),
- ✓ contenido en azúcares (°Brix), estimado mediante el índice de sólidos solubles de su zumo, y
- ✓ contenido en ácidos (meqx1000), estimado mediante la valoración de los ácidos totales titulables.

Por otro lado no hay que olvidar que hasta hace pocos años el único método utilizado para el análisis de los gases emitidos por un fruto era la CG, que sigue siendo el método de referencia reconocido por todos los laboratorios de análisis químico. Este hecho junto con el conocimiento de que ambas técnicas lejos de ser sustitutivas son complementarias, explican la necesidad de comparar y correlacionar las medidas obtenidas con la NE con aquellas obtenidas por CG.

Así cada lote de fruta se dividió en dos muestras duplicadas. Uno de ellos era enviado a Madrid por el segundo equipo participante en el proyecto AROFRU, la unidad de Post-cosecha de la Universidad de Lleida y el otro quedaba en dicha

unidad, realizándose simultáneamente en ambas localizaciones los ensayos correspondientes a la NE, en Madrid, y los correspondiente a la CG, en Lleida (ver Figura 9.5), donde la extracción de los aromas se realizó según el método de espacio de cabeza dinámico descrito por (Kakiuchi et al. 1986) y ampliamente utilizado por el grupo de Lleida en diversas aplicaciones sobre fruta entera (Lavilla et al. 1999; López et al. 2000).

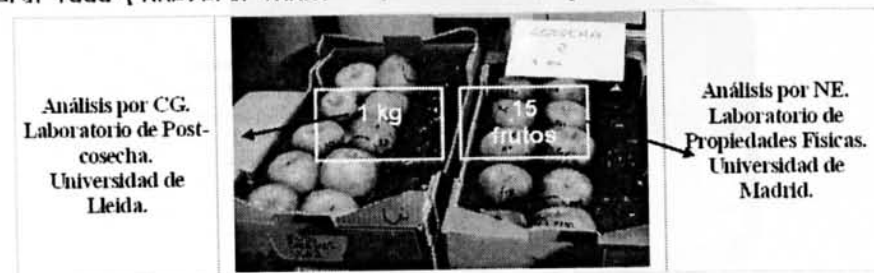


Figura 9.5. Esquema explicativo de la distribución de la muestra en dos lotes.

6.1.2. Metodología en el uso de la nariz electrónica

6.1.2.1. Descripción de la nariz electrónica "Libra Nose"

La NE "Libra Nose" es un equipo sensor de gases comercializado por la empresa italiana Technobiochip, desarrollado a partir del prototipo diseñado por el grupo dirigido por los profesores Arnaldo D'Amico y Corrado di Natale en el Dipartimento di Sensory e Microsistemy de la Università di Torvergata di Roma (Italia).

La estructura externa del instrumento (ver Figura 9.6) está basada en un cilindro de aluminio de 17 cm de altura y 10 cm de diámetro en cuyo interior se disponen todos aquellos elementos necesarios para el funcionamiento de la NE. El conjunto tiene un peso total de 1.4 kg, es por tanto un equipo portátil, en el que podemos distinguir los siguientes componentes:

- ✓ SISTEMA DE FLUJO, localizado en la parte inferior del cilindro y formado por una micro-bomba capaz de crear un flujo de absorción constante, tres micro-electroválvulas para canalizar el efluente y un sistema interno de tuberías que conectan estos elementos entre sí y con la cámara de medida,

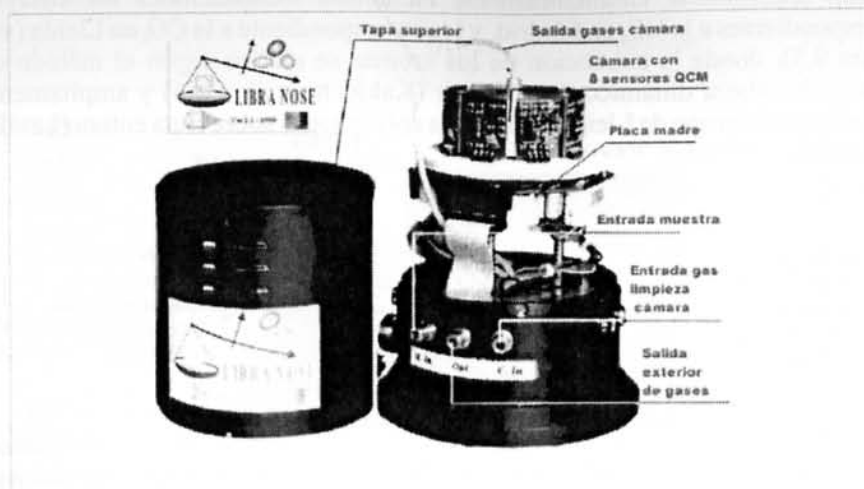


Figura 9.6. Imagen descriptiva de los distintos componentes de la NE "Libra Nose".

- ✓ CÁMARA DE MEDIDA, situada en la parte superior del equipo, es en la que están situados los sensores. Los sensores están dispuestos de forma equidistante a lo largo de la pared interior de la cámara, también cilíndrica, de aproximadamente 20 ml de volumen y fabricada en acero inoxidable.
- ✓ SISTEMA SENSORIAL, es la parte fundamental del instrumento está basado en una matriz de 8 sensores del tipo QCM, recubiertos por una capa sensible de metaloporfirinas. En el recubrimiento de cada uno de los sensores la molécula de porfirina está asociada a un metal distinto, de forma que cada sensor dispone de una capa sensible de características diferentes,
- ✓ CIRCUITO DE OSCILACIÓN, cada sensor tiene una frecuencia fundamental de 20 MHz y es parte de un circuito de oscilación. El circuito completo está formado por ocho osciladores que controlan la oscilación del cristal de cuarzo aportándole la energía necesaria para su funcionamiento,
- ✓ SISTEMA DE ESTABILIDAD TÉRMICA, formado por un microventilador y por un sensor térmico situado en contacto con la cámara de medida con dos células de Peltier como accionadores capaces de suministrar o de extraer el calor necesario para obtener la estabilización térmica deseada,
- ✓ SISTEMA DE CONTROL INTERNO, formado por una placa base situada en la parte media del equipo inmediatamente por debajo de la cámara de medida, está basada en un microcontrolador programable que maneja el proceso completo de medida y permite la adquisición de las

frecuencias de cada sensor, su memorización, el control de la parte neumática, control de la temperatura, y la comunicación bidireccional del conjunto con el ordenador,

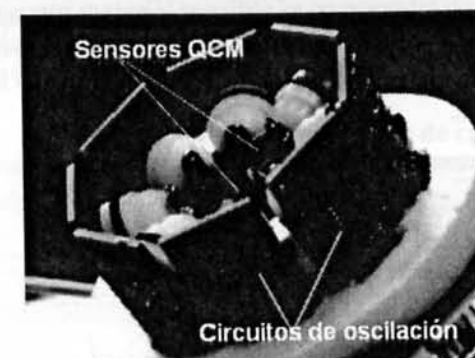


Figura 9.7. Imagen de los sensores de gases y sus correspondientes circuitos de oscilación dispuestos en el interior de la cámara de medida.

- ✓ SISTEMA DE CONTROL CENTRAL, es un PC conectado vía puerto de serie con la NE con el que el operador puede controlar el procedimiento entero de la medida dirigiendo los accionadores y programando la temperatura y los valores de flujo deseados (ver Figura 9.9). El software Libra Nose 1.2 - 2000 permite también visualizar y elaborar los datos que envía el dispositivo, de forma que el programa establece como referencia interna la frecuencia en el punto de inicio (aproximadamente 20 MHz), es decir, a cada medida se sustrae el primer valor de frecuencia de oscilación obteniendo un valor de frecuencias relativas (f^*).

Una vez descritas las características del equipo, el otro aspecto fundamental es definir cuales son las características de la señal del sensor que se va a considerar como variable objeto de análisis estadístico.

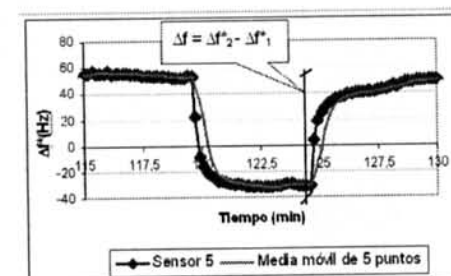


Figura 9.8.:Ejemplo de la señal de un sensor QCM durante la realización de una medida, antes y después de su suavizado.

Así la variable que se va a usar como respuesta del sensor ante una muestra gaseosa es el incremento entre las señales relativas estabilizadas (f) antes y después de la exposición del sensor al gas (ver Figura 9.8). Durante la realización de la medida y como consecuencia de la adsorción de las moléculas gaseosas sobre el recubrimiento sensible del sensor, la frecuencia a la que este oscila disminuye y el sistema de limpieza debe garantizar la recuperación de la señal a niveles similares a los del inicio.

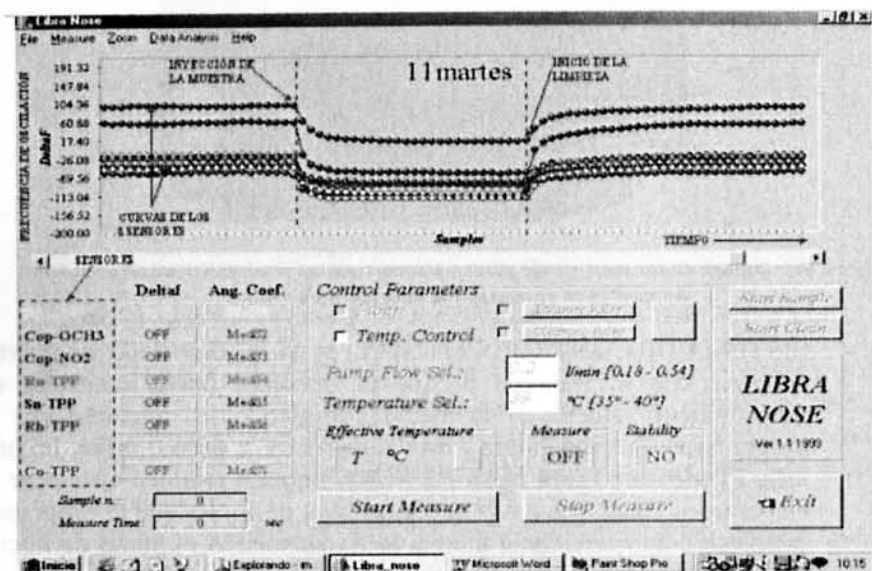


Figura 9.9. Imagen del display que aparece en pantalla, del programa Libra Nose 1.2.-2000, los rótulos que aparecen en rojo han sido añadidos por la autora como indicaciones explicativas.

6.1.2.2. Sensores QCM

En las Microbalanzas de Cristal de Cuarzo (QCM) si una masa es adsorbida o se coloca sobre la superficie del cristal de cuarzo la frecuencia de oscilación (oscila el cristal entero) cambia en proporción a la cantidad de masa, de forma que midiendo el cambio en la frecuencia de oscilación se puede determinar la cantidad de masa. Estos mecanismos han sido usados como sensores de gases recubriendo el cristal con un material selectivo hacia la especie gaseosa de interés. La sensibilidad de este tipo de sensores está relacionada con la frecuencia de oscilación del cuarzo (típicamente entre 10-30MHz).

Para la selección de la matriz de ocho sensores QCM de la NE "Libra Nose" se identificaron los compuestos que desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo tenían más importancia en la caracterización aromática de manzanas y

peras, en base a esta información los expertos en sensores de la universidad de Roma seleccionaron los recubrimientos más adecuados para la detección de dichos volátiles. El lote de sensores de doble capa, es decir, ambas caras del sensor (S) están recubiertas por material sensible se compondrá de los siguientes tipos de recubrimientos: Mn (S1), Cop-OCH3 (S2), Cop-NO2 (S3), Ru (S4), Sn (S5A), Sn (S5B), Cr (S7) and Co (S8).

6.1.2.3. Generación del espacio de cabeza

Se ha utilizado la técnica "Estática-Dinámica con Transferencia del Efluente" para la generación del espacio de cabeza que para el muestreo de fruta consistía en la colocación de un único fruto entero en el interior de un bote hermético de cristal de 0,75 l (ver Figura 9.10). En la tapa del recipiente se han instalado dos válvulas de corte / apertura total de flujo para facilitar la transferencia eficiente del espacio de cabeza a la nariz electrónica. El tiempo de generación del espacio de cabeza es de 1 hora.



Figura 9.1. Dispositivo para la generación del espacio de cabeza

6.1.2.4. Transferencia del espacio de cabeza

Cuando se alcanza el equilibrio entre la fase gaseosa y la fase líquida o sólida de la muestra un flujo controlado de aire de 0,2 l/min generado por la succión ejercida por la microbomba localizada en el interior de la NE, transporta al espacio de cabeza hacia la cámara de medida donde se encuentran los sensores. Para evitar que aparezcan depresiones en el interior del recipiente aire sintético seco C50 almacenado en el interior de una bolsa de teflón conectado a través de un sistema de tubos a una de las válvulas del bote hermético, entra en el interior del bote por su parte inferior empujando al espacio de cabeza hacia la NE a través de la otra válvula (ver Figura 9.11).

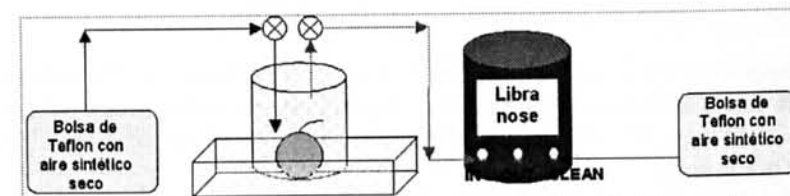


Figura 9.11. Esquema explicativo de la generación y transferencia del espacio de cabeza generado por un fruto y con sistema de transferencia y limpieza basado en aire sintético seco.

6.1.2.5. Sistema de limpieza y gas portador

Cuando la muestra gaseosa alcanza la cámara de medida la frecuencia de oscilación de los sensores cambia obteniéndose así la variable de interés una vez estabilizada su señal. Tras la obtención de la señal correspondiente a la muestra gaseosa la cámara de medida debe ser limpiada para que los sensores recuperen su frecuencia normal de oscilación, quedando preparados para realizar la siguiente medida.

Al igual que en la transferencia del espacio de cabeza es la micro-bomba de la NE la que genera un flujo de succión de 0,2 l/min, obligando al gas portador a entrar en la cámara de medida a través de la válvula CLEAN, aire sintético seco C50 procedente de bombona a presión almacenado en bolsa de Teflón es el encargado de barrer las moléculas del espacio de cabeza que permanecen adsorbidas sobre la superficie de los sensores.

Las bolsas tienen la doble misión de contener el aire sintético seco de forma que no se comunique a la micro-bomba de la NE ninguna sobre-presión que pudiera dañarla como ocurriría si la transferencia se hiciera directamente de la bombona y de no contaminar el aire almacenado con ningún olor extraño, de ahí que se utilicen bolsas de un material inerte como es el Teflón®.

6.1.2.6. Sistema de referencia: 1-propanol

Al igual que en otras técnicas como por ejemplo la CG es necesario usar patrones o referencias como herramienta de calibración para controlar el estado de la NE y poder así tratar conjuntamente los datos obtenidos en diferentes sesiones o días de trabajo, se establece un sistema de calibración de la matriz de datos original en función de la respuesta diaria de los sensores hacia la referencia definiéndose en base a ella un factor o nivel de corrección (NC), cuyas características concretas se han descrito en distintas publicaciones (Correa et al, 2001). El 1-propanol fue seleccionado como la referencia ya que era el que presentaba una mejor repetibilidad de las medidas, según ensayos previos. Para obtener el espacio de cabeza, un bote hermético de cristal de 50 ml es llenado un 10% y cerrado mediante un tapón tipo septo, usando un sistema de agujas y tubos para realizar la transferencia del espacio de cabeza generado durante 20 min.

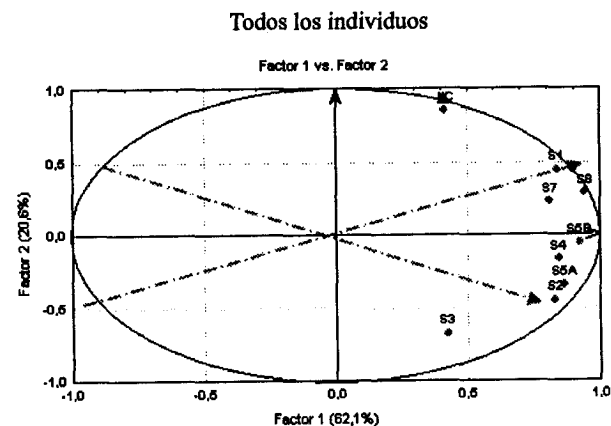
El espacio de cabeza del 1-propanol es medido al final de cada día de trabajo para evitar fallos debidos a la alteración de la respuesta de los sensores, puesto que su espacio de cabeza está demasiado concentrado si lo comparamos con el generado por la fruta.

6.2. RESULTADOS

6.2.1. Nariz electrónica

El Análisis de Componentes Principales (ACP) realizado sobre la matriz de datos corregida con respecto a la referencia el 1-propanol define dos factores el Factor 1 con una varianza explicada (var.expl) del 62.1% está correlacionado con todos los sensores de la NE a excepción del sensor S3 y el nivel de corrección (NC), que con una información independiente al resto definen el segundo Factor (var.expl. 20.6%) del ACP (ver Figura 9.12).

La información correspondiente al grupo de sensores que definen el Factor 1 responde significativamente primero a los tiempos de almacenamiento en cámara y en segundo lugar a los tiempos de estancia en estantería, de forma que los sensores están respondiendo hacia algún volátil que evoluciona influenciado por el tiempo de estancia ya sea en cámara o en estantería, permitiendo así la información aportada por la nariz electrónica la diferenciación entre los tres tiempos de almacenamiento considerados (ver Figura 9.13) principalmente cuando se busca la interacción de esta factor con el tiempo de vida en estantería (ver Figura 9.14).



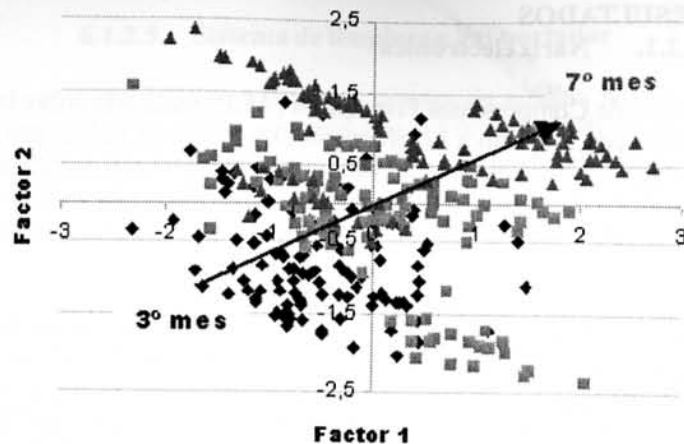


Figura 9.13. Proyección de los individuos en una ACP sobre Experimento II.B (2ª campaña), con manzanas Fuji ($n=360$) según el TA en cámara. Se ha aplicado corrección aditiva y multiplicativa.

El sensor 3 recoge la ligera variabilidad introducida en el conjunto de datos como consecuencia de la distinta fecha de recolección de los lotes, aunque se observa que la respuesta es ligeramente mayor hacia los frutos cosechados más tardíamente es tras 5 meses de almacenamiento cuando se alcanzan los valores máximos para la segunda cosecha y por tanto la máxima diferencia entre los dos grupos, que se refleja en el gráfico de proyección de los individuos correspondientes a 5 meses de almacenamiento, en los que los frutos cosechados más tempranamente presentan valores positivos para el Factor 2, mientras que la segunda cosecha presenta valores negativos para ese Factor (ver Figura 9.14).

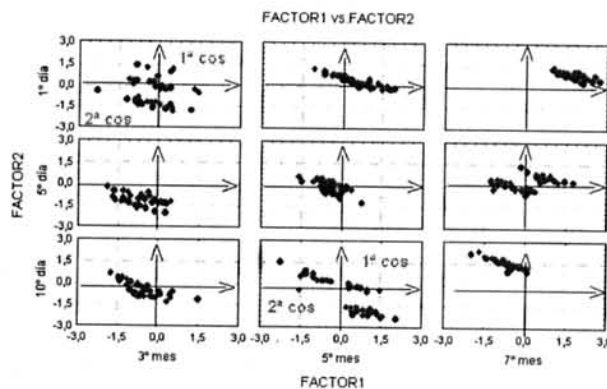


Figura 9.14. Proyección de los individuos en una ACP sobre Experimento II.B (2ª campaña), con manzanas Fuji ($n=360$) según el TA en cámara y el tiempo de VE. Se ha aplicado corrección aditiva y multiplicativa.

El NC influye significativamente sobre la información aportada por el S3 con lo que los comentarios realizados sobre éste deben considerarse con cuidado. Por otra parte el NC se mantiene independiente de 7 de los 8 sensores de la NE lo que implica que las conclusiones realizadas sobre la información que estos aportan y su capacidad de segregación entre lotes son realistas. El factor que introduce menor variabilidad en el conjunto de los datos es el tipo de almacenamiento cuyo efecto resulta no significativo.

6.2.2. Comparación de los métodos de referencia con la nariz electrónica

El análisis por cromatografía de gases de la emisión aromática de esta variedad indica que está influida fundamentalmente por el tipo de almacenamiento que es el factor que en el análisis de varianza alcanza valores de significación más elevados. Se observa así que para todas los tiempos de almacenamiento y vida en estantería considerados son las cámaras correspondientes a ULO las que mantienen a los frutos con los niveles de emisión más bajos. El almacenamiento en condiciones de ACS debido a su carácter menos restrictivo permite que los frutos desarrollen tasas de emisión más elevadas correspondiendo la máxima emisión a los frutos almacenados en condiciones de FN.

De entre los compuestos identificados y cuantificados el acetato de 2-metilbutilo es el compuesto mayoritario del aroma complementando su importancia cuantitativa con su importancia cualitativa ya que al detectarse una emisión media de 277,7 g/kg el valor aromático que le corresponde es de 55. El mismo comportamiento se detecta para el éster acetato de hexilo que con una emisión 91,8 g/kg le corresponde un valor aromático de 45,9, lo que le convierte junto con el acetato de 2-metilbutilo en el compuesto impacto de la variedad.

Los resultados indican a su vez que la evolución de la emisión de aromas en las cámaras ULO es mínima o a lo sumo tiende a descender a medida que aumentan tiempo de almacenamiento y tiempo de vida en estantería, lo que supondría que el fruto pierde su capacidad de recuperar su tasa de emisión aromática normal incluso tras un periodo de maduración en estantería de 10 días.

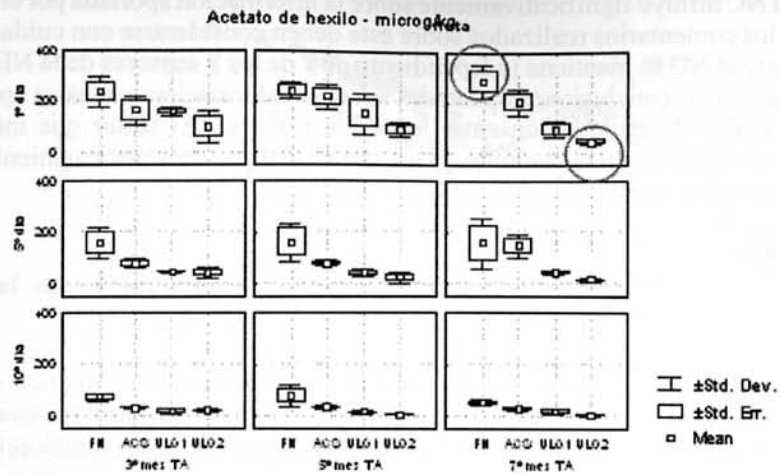


Figura 9.15. Evolución de la emisión de acetato de hexilo a lo largo de tres TA, tres tiempos de VE para las cuatro CA. No se considera el factor FR por resultar no significativo

Son por tanto los frutos almacenados en FN y ACS los únicos tipos de almacenamiento cuya emisión aromática interacciona con los factores tiempo de almacenamiento y tiempo de vida en estantería y con los que se puede esperar un tipo de correlación entre su emisión aromática y la respuesta de la nariz electrónica.

Se realiza así sólo para los datos correspondientes a los frutos almacenados en condiciones de FN y ACS un ACP conjunto considerando los sensores de la NE, la emisión aromática determinada por CG y las variables que ayudan a caracterizar el grado de madurez de la fruta como son las de textura (PPTE y MPTE) y calidad organoléptica (ácidos y azúcares).

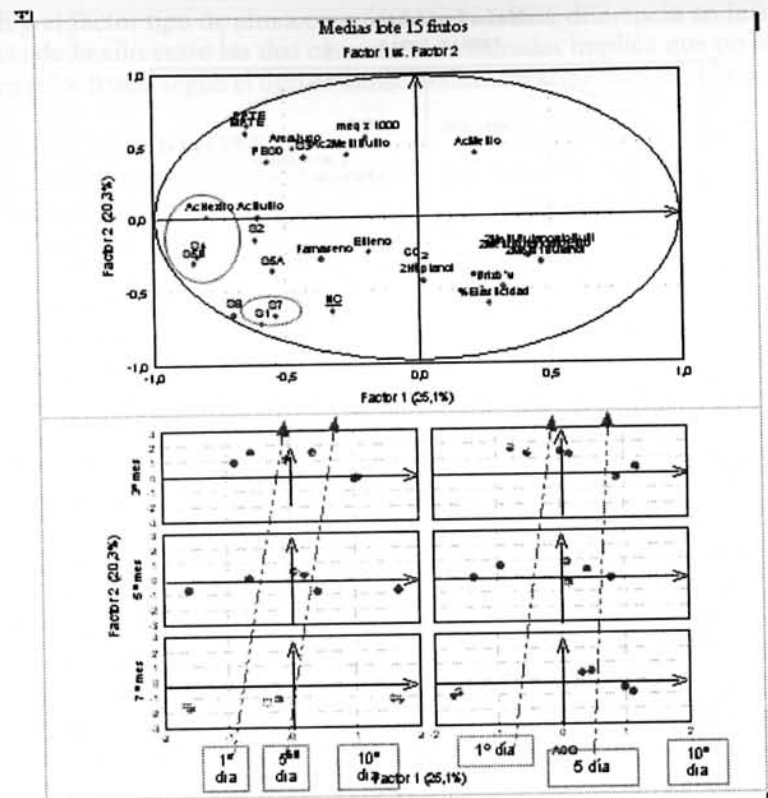


Figura 9.16. Proyección de las variables, según Factor 1 y Factor 2, en un ACP conjunto de las referencias con los sensores de la NE, considerando sólo los datos correspondientes a FN y ACS con $n=36$.

En este ACP se define un nuevo Factor 1 (var.expl 25.1%) caracterizado por los sensores de la NE, S4 y S5B y por la emisión de acetato de hexilo con la que están positivamente correlacionados ($r_{\text{AcHexilo vs S4}}=0.59$, $r_{\text{AcHexilo vs S5B}}=0.58$). Es decir al aumentar la tasa de emisión de acetato de hexilo, compuesto impacto de la variedad, aumenta la señal de los sensores citados lo que permite realizar un seguimiento de la evolución de los frutos conservados en condiciones de FN y ACS a lo largo del tiempo de vida en estantería, detectándose los niveles máximos de emisión y por tanto de señal de los sensores para los frutos recién salidos de cámara (1º día) (ver Figura 9.16 y Figura 9.17).

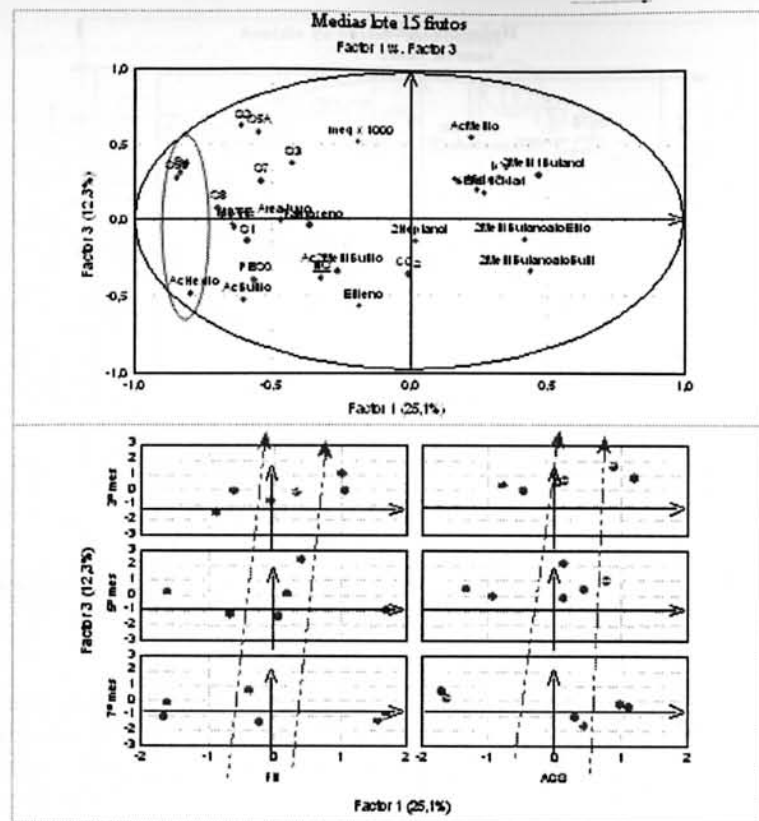


Figura 9.17 Proyección de las variables, según Factor 1 y Factor 3, en un ACP conjunto de las referencias con los sensores de la NE, considerando sólo los datos correspondientes a FN y ACS con $n=36$.

El Factor 2 (var.expl. 20.23%) está caracterizado por la información de otros dos sensores de la nariz electrónica el S1 y S7, donde el aumento de la respuesta de los sensores al aumentar el tiempo de almacenamiento de 3 a 7 meses, permite diferenciar a lo largo del segundo factor los tres tiempos de almacenamiento considerados tanto en ACS como en FN, esto implicaría la evolución a lo largo del almacenamiento en cámara de algún o algunos volátiles que no han sido identificados. Mientras el tercer Factor (var.expl. 12.3%) no está caracterizado por ninguna variable concreta.

Según este análisis ACP la información más relevante es la extraída de los sensores de la NE y de la emisión de uno de los compuestos impacto del aroma de la variedad Fuji el acetato de hexilo. La no correlación existente entre los sensores de

la NE y el factor tipo de almacenamiento y la escasa diferencia en la emisión de acetato de hexilo entre las dos cámaras consideradas implica que no sea posible segregar los frutos según el tipo de almacenamiento al que han sido sometidos.

6.3. CONCLUSIONES

La información aportada por todos los sensores (exceptuando el S3) es significativa e independiente del nivel de corrección y **permite la diferenciación entre los tres tiempos de almacenamiento considerados, fundamentalmente cuando se busca la interacción de este factor con el tiempo de vida en estantería**, efecto que se observa principalmente inmediatamente tras la salida del fruto de la cámara de almacenamiento. Saevels, di Natale, and Nicolai (2002) con el mismo equipo de nariz electrónica son capaces de diferenciar entre distintos tiempos de vida en estantería como se ha podido comprobar en este Experimento y al igual que en nuestro caso no pudieron detectar diferencias significativas en lotes de manzana en su caso de la variedad Jona Gold correspondientes a almacenamientos en distintas atmósferas.

Además para los frutos conservados en frío normal y atmósfera controlada estándar se ha encontrado **una correlación entre la información sensorial de la nariz electrónica a través de los sensores 4 y 5B y la aportada por la cromatografía de gases a través del acetato de hexilo** compuesto impacto de la variedad, lo que explicaría la capacidad de los sensores para realizar un seguimiento de la evolución de los frutos conservados en condiciones de FN y ACS a lo largo del tiempo de almacenamiento en cámara y el tiempo de vida en estantería. Este resultado es de especial interés puesto que no es habitual encontrar en la bibliografía trabajos que reflejen una comparativa entre la información aportada por una nariz electrónica y la correspondiente a la cromatografía de gases y en concreto no se ha encontrado ningún antecedente que refleje una correlación concreta entre sensores de una nariz electrónica y uno o varios compuestos aromáticos característicos de la variedad como si se ha comprobado en este caso.

7. AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo ha sido posible gracias a la financiación de la Universidad Politécnica de Madrid (beca FPI), de los proyectos nacionales CICYT (AROFU ALI98-0960-CO2-01/02), INIA SC99-057 y del proyecto europeo ASTEQ FAIR5 CT97-3516, y a la disponibilidad de la Universidad Católica de Ávila.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Barreiro, P., and M Ruiz-Altisent. 1996. Propiedades Mecánicas y Calidad de Frutos, Definiciones y Medidas Instrumentales. Fruticultura Profesional, no. 77: 48-55.

2. Bartlett, P. N., J. M. Elliot, and J. W. Gardner. 1997. Electronic Noses and Their Application in the Food Industry. *Food Technology* 51, no. 12: 44-48.
3. Bauer, D. R., A. G. Santi, and V. Utermohlen. 2000. How Individual Differences in taste Input Impact Smell and Flavor Perception - An Example of a Complex Process. *International Conference on Complex Systems (ICCS)*.
4. Brezmes, J., E. Llobet, X. Vilanova, G. Saiz, and X. Correig. 2000. Fruit Ripeness Monitoring Using an Electronic Nose. *Sensors and Actuators B*, no. 69: 223-29.
5. 2001. Evaluation of the Electronic Nose as a Novel Instrument to Assess Fruit Ripeness. *EURODEUR-AIRODEUR. La Metrologie des Odeurs et les Nez Electroniques*.
6. Crouzet, J., P. Etievent, and C. Bayonove. 1990. Stoned fruit: Apricot, Plum, Peach, Cherry. *Developments in Food Science*. 3C: 43-91.
7. Di Natale, C., A. Macagnano, F. Davide, A. D'Amico, R. Paolesse, T. Boschi, M. Faccio, and G. Ferri. 1997. An Electronic Nose for Food Analysis. *Sensors and Actuators B* 44: 521-26.
8. Fallik, E., Archbold D.D., T. R. Hamilton-Kemp, J. H. Loughrin, and R. W. Collins. 1997. Heat Treatment Temporarily Inhibits Aroma Volatile Compound Emission from Golden Delicious Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 4038-41.
9. Fernández, R., and P. Saá. 2001. Realidad Económica de la Fruta en el Mercado Español. *Un Análisis desde la Perspectiva de la oferta y la Demanda. Distribución y Consumo*, no. Abril-Mayo: 57-77.
10. Flath, R. A., D. R. Black, D. G. Guadagni, W. H. McFadden, and T. H. Schultz. 1967. Identification and Organoleptic Evaluation of Compounds in Delicious Apple Essence. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 15, no. 1: 29-35.
11. Gelperin, A., J. L. Dawson, S. M. Cazares, and H. S. Seung. Rapid Fruit Cultivar Identification by an Artificial Olfactory System. *5th International Symposium on Olfaction and the Electronic Nose*.
12. Harborne, J. B. 1993. Feeding Preferences of Vertebrates, Including Man. *Introduction to Ecological Biochemistry*. 4th ed., 174-79. 400.
13. Herrero, A., and J. Guardia. 1992. Conservación de Frutos. *Manual Técnico*. Ediciones Mundi-Prensa.
14. Hines, E. L., E. Llobet, and J. W. Gardner. 1999. Neural Network Based Electronic Nose for Apple Ripeness Determination. *Electronics Letters* 35, no. 10: 772-73.
15. Horvat, R. J., G. W. Chapman, J. A. Robertson, F. I. Meredith, R. Scorza, A. M. Callahan, and P. Morgens. 1990. Comparison of the Volatile Compounds from Several Commercial Peach Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38: 234-37.
16. Kakiuchi, N., T. Moriguchi, H. Fukuda, N. Ichimura, Y. Kato, and Y. Banba. 1986. Composition of Volatile Compounds of Apple Fruits in Relation to Cultivars. *J. Jap. Soc. Hortic. Sci.*, no. 55: 280-289.
17. Lacey, R. E., and G. S. Osborn. 1998. Application of Electronic Noses in Measuring Biological Systems. *ASAE Annual International Meeting*, 98-6116.
18. Lavilla, M. T., J. Puy, M. L. López, I. Recasens, and M. Vendrell. 1999. Relationships between Volatile Production, Fruit Quality, and Sensory Evaluation in Granny Smith Apples Stored in Different Controlled-Atmosphere Treatments by Means of Multivariate Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, no. 47: 3791-803.
19. Llamazares, A., and A. Martínez. 2001. El Análisis Sensorial como Método para Evaluar La Calidad Final de las Frutas (I). *Informaciones Técnicas. Dirección General De Tecnología Agraria*, no. 94: 1-8.
20. Llobet, E., E. L. Hines, J. W. Gardner, and Franco S. 1999. Non-Destructive Banana Ripeness Determination Using a Neural Network Based Electronic Nose. *Measurement Science and Technology* 10: 538-48.
21. López, M. L., M. T. Lavilla, J. Graell, I. Recasens, and M. Vendrell. 1999. Effect of Different CA Conditions on Aroma and Quality of Golden Delicious Apples. *Journal of Food Quality*. no. 22: 583-97.
22. López, M. L., M. T. Lavilla, I. Recasens, J. Graell, and M. Vendrell. 2000. Changes in Aroma Quality of Golden Delicious Apples after Storage at Different Oxygen and Carbon Dioxide Concentrations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, no. 80: 311-24.
23. López, M. L., M. T. Lavilla, M. Riba, and M. Vendrell. 1998a. Comparison in Volatile Compounds in two Seasons in Apples: Golden Delicious and Granny Smith. *Journal of Food Quality*. no. 21: 155-66.

24. López, M. L., T. Lavilla, I. Recasens, M. Riba, and M. Vendrell. 1998b. Influence of Different Oxygen and Carbon Dioxide Concentrations During Storage on Production of Volatile Compounds by Starking Delicious Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, no. 46: 634-43.
25. Maruniak, J. A. 1996. The Sense of Smell. *Sensory Analysis of Food*. Second ed., J. R. Piggott, 25-68. London and New York.
26. Mattheis, J. P., D. A. Buchanan, and Fellman J.K. 1995. Volatile Compound Production by Bisbee Delicious Apples after Sequential Atmosphere Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43: 194-99.
27. Maul, F., S. A. Sargent, D. J. Huber, M. O. Balaban, C. A. Sims, and E. A. Baldwin. 1999. Affect Volatile Profiles of Ripe Tomato Fruits: Electronic Nose and Gas Chromatographic Analyses. 5th International Symposium on Olfaction and the Electronic Nose.
28. Mielle, P. 1996. "Electronic Nose" Towards the Objective Instrumental Characterization of Food Aroma. *Trends in Food Science & Technology* 7: 432-38.
29. Pérez, A. G., C. Sanz, J. J. Ríos, and J. M. Olías. 1993. Estudio Comparativo de los Perfiles Aromáticos de Manzana, Plátano y Fresa. *Revista Española De Ciencia y Tecnología De Los Alimentos*. 33, no. 6: 665-77.
30. Poll, L. 1985. The Influence of Apple Ripeness and Juice Storage Temperature on the Sensory Evaluation and Composition (Volatile and Non-Volatile Components) of Apple Juice. 18: 205-11.
31. Reglamento (CE) N° 1619/2001 de la Comisión. 2001. Reglamento del 6 de Agosto de 2001, por el que se Establecen las Normas de Comercialización de las Manzanas y Peras y se Modifica el Reglamento (CEE) n° 920/89. *Diario Oficial De Las Comunidades Europeas* 9.8.2001, no. L215: 3-16.
32. Rizzolo, A., and A. Polesello. 1989. CGC/Sensory Analysis of Volatile Compounds Developed from Ripening Apple Fruit. *Journal of High Resolution Chromatography*. 12: 824-27.
33. Saevels, S., C. di Natale, and B. Nicolai. 2002. Electronic Nose Technology to Evaluate Picking Date of Apples. 6th Interantional Sympositum of Fruit, Nut, and Vegetable Production Engineering., 519 Institute of Agricultural Engineering Bornim e. V.(ATB).
34. Saevels, S., E. A. Veraverbeke, A. Z. Berna, J. Lammertyn, C. di Natale, and B. M. Nicolai. 2002. Evaluating Apple Quality after Storage by Means of an Electronic Nose and GC. *EurAgEng* 2002, 02-Ph-031.
35. Shaath, N. A., and P. M. Griffin. 1988. Modern Analytical Techniques in the Flavor Industry. 5th International Flavor Conference , 89. Developments in Food Science, no. 17, Frontiers of Flavor. George Charalambous.
36. Shepherd, N. 1999. Sensory Assessment of Foods. Summer School "Sensors for Food Applications".
37. Song, J., and F. Bangerth. 1994. Production and Development of Volatile Aroma Compounds Apple Fruits at Different Times of Maturity. *Acta Horticulturae*. 368: 150-159.
38. Streif, J., and F. Bangerth. 1988. Production of Volatile Aroma Substances by "Golden Delicious" apple fruits after storage for various times in different CO₂ and O₂ concentrations. *Journal of Horticultural Science*. 63 , no. 2: 193-99.
39. Takeoka, G. R., R. G. Buttery, and R. A. Flath. 1992. Volatile Constituents of Asian Pear (*Pyrus serotina*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 1925-29.
40. Takeoka, G. R., R. A. Flath, T. R. Mon, R. Teranishi, and M. Guentert. 1990. Volatile Constituents of Apricot (*Prunus armeniaca*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38: 471-77.
41. Valero, C., and M Ruiz-Altisent. 1998. Equipos de Medida de Calidad Organoléptica en Frutas. *Fruticultura Profesional*, no. 95: 38-45.
42. Watada, A. E., Abbott J.A., R. E. Hardenburg, and W. Lusby. 1981. Relationships of Apple Sensory Attributes to Headspace Volatiles, Soluble Solids and Titratable Acids. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 106, no. 2: 130-132.
43. Young, H., J. M. Gilbert, S. H. Murray, and R. D. Ball. 1996. Causal Effects of Aroma Compounds on Royal Gala Apple Flavours. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 71: 329-36.
44. Young, H., K. Rossiter, M. Wang, and M. Miller. 1999. Characterization of Royal Gala Apple Aroma Using Electronic Nose Technology-Potencial Maturity Indicator. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, no. 47: 5173-77.

ISBN: 84-8448-281-2



9 788484 482819



SECRETARIADO DE PUBLICACIONES
E INTERCAMBIO EDITORIAL
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID